

УДК 543.544

## ТЕХНОЛОГИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ЭФФЕКТИВНЫХ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ КОЛОНОК С ВНУТРЕННИМ ДИАМЕТРОМ 2 ММ ДЛЯ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

С.Н.Сычев, В.А.Гаврилина, С.А.Юрова, И.К.Сатцаева, А.Н.Бутырин  
Орловский государственный технический университет  
chemistry@ostu.ru, crom@orel.ru

Поступила в редакцию 31 января 2003 г.

Рассмотрены основные технологические приемы и режимы изготовления высокоэффективных хроматографических колонок с внутренним диаметром 2 мм для ВЭЖХ. Обобщены результаты изготовления, тестирования и эксплуатации более чем 1500 хроматографических колонок к хроматографам серии «Милихром».

**Сычев Сергей Николаевич** - профессор кафедры химии Орловского государственного технического университета, кандидат химических наук.

**Область научных интересов:** межмолекулярные взаимодействия на границе раздела фаз; теория, практика и конструирование в области высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

**Автор около 60 научных и научно-технических работ, двух монографий по теории и практике ВЭЖХ.**

**Гаврилина Вера Александровна** - старший преподаватель кафедры химии Орловского государственного технического университета, кандидат технических наук.

**Область научных интересов:** физико-химические методы анализа растворов.

**Автор около 30 научных и научно-технических работ, соавтор одной монографии по практике применения ВЭЖХ.**

**Юрова Светлана Анатольевна** - аспирант Орловского государственного технического университета.

**Сатцаева Инна Коминтерновна** - аспирант Орловского государственного технического университета.

**Бутырин Александр Николаевич** - аспирант Орловского государственного технического университета.

Высокоэффективные хроматографические колонки представляют собой важнейшие компоненты жидкостных хроматографов. Использование высококачественных хроматографических колонок является обязательным условием получения надежных хроматографических данных.

Основная цель данной работы - изложение технологии изготовления высокоэффективных хроматографических колонок с внутренним диаметром 2 мм, разработанной автором [1] на основе приемов, предложенных Г.И.Барамом, и внедренной на ЗАО «Научприбор».

При разработке технических условий на колонки аналитические хроматографические КАХ автор с сотрудниками установили следующие показатели [1,2]:

- размеры колонок должны быть 64x2.80x2.100x2.120x2;

- колонки должны быть заполнены силикагелем (КАХ-1, КАХ-3, КАХ-5) или обращенно-фазовым адсорбентом С16 или С18 (КАХ-2, КАХ-4, КАХ-6); колонки, заполненные другими адсорбентами, изготавливались по отдельным заявкам;

- минимальная удельная эффективность должна быть не менее 50000 т.т./м;

- коэффициенты асимметрии хроматографических пиков, по которым рассчитывалась эффективность колонки не должны быть более 1.2;

- наработка на отказ должна быть не менее 600 анализов тестовой смеси для обращенно-фазового адсорбента и 900 анализов для колонок, заполненных силикагелем;

- гарантийный срок хранения без консервации не должен быть менее 3 месяцев.

Для получения серийных высокоэффективных хроматографических колонок необходимы два условия: наличие хорошо пакующегося в колонки сорбента и достаточно простой технологии изготовления.

#### **Характеристика адсорбентов для ВЭЖХ, подготовка адсорбентов для заполнения колонок и результаты тестирования колонок**

Автором [1] с сотрудниками были изготовлены и испытаны около 1500 хроматографических колонок к хроматографам "Милихром", запол-

ненных различными адсорбентами: силикагель Silasorb 600 (LACHEMA, Чехия); силикагель Silasorb SPH 600 (LACHEMA, Чехия); силикагель Separon SGX (TESSEC, Чехия); силикагель Nucleosil Sil (MASHERY NAGEL, Германия); силикагель Lichrosorb Sil (MERK, Германия); силикагель Армсорб (Армения); Silasorb C 18 (LACHEMA, Чехия); Silasorb SPH C 18 (LACHEMA, Чехия); Separon SGX C 18 (TESSEC, Чехия); Nucleosil C 18 (MASHERY NAGEL, Германия); Армсорб C 18 (Армения); Диасорб C 16 Т (БиоХимМак, Россия); Диасорб CN (БиоХимМак, Россия); Диасорб C10 CN (БиоХимМак, Россия); Диасорб NH<sub>2</sub> (БиоХимМак, Россия). Некоторые результаты испытаний представлены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты испытаний хроматографических колонок

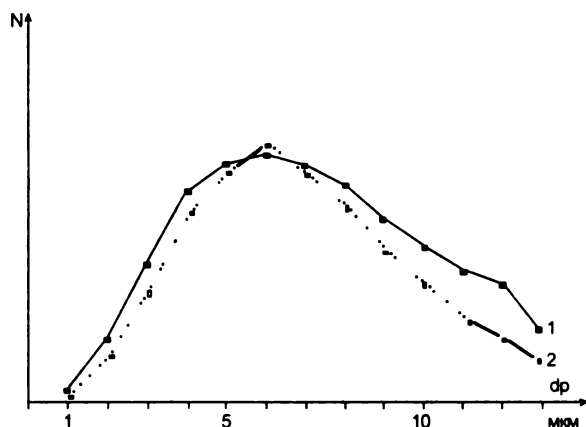
Адсорбент	Диаметр частиц адсорбента, мкм	Длина колонки, мм	Общая эффективность, т.т.	Удельная эффективность, т.т./м	Высота Н, dp	Коэффициент асимметрии
Силасорб-600, (1983 г.)*	4,9	120	12890	107000	1,90	1,19
Силасорб-600, (1990 г.)*	4,8	120	8250	68750	3,03	1,17
Силасорб SPH	5,4	80	4640	58000	3,19	1,0
Сепарон SGX	5,0	64	3670	57670	4,49	1,12
Сепарон SGX	3,0	64	4460	69680	4,78	1,21
Нуклеосил Si	5,0	64	4640	72500	2,75	1,15
Лихросорб Sil	5,0	64	3750	58590	3,41	1,25
Силасорб SPH C18 (1990 г.)*	5,4	64	3870	60000	3,06	1,01
Силасорб SPH C18 (1991 г.)*	5,0	64	6250	97650	2,05	1,17
Сепарон C18	5,0	64	6280	98100	2,04	1,19
Нуклеосил C18	5,0	64	6310	98600	2,03	1,15
Армсорб C18	6,0	64	3300	51560	3,23	1,22
Диасорб C16T	5,2	64	5960	93100	2,07	1,19

\*Указание года производства Силасорбов связано с введением в 1983 г. и отменой в 1991 г. неверных режимов турбулентной сушки силикагеля, в результате которой диаметр пор уменьшался до 50 - 45Е. Уменьшение диаметра пор приводило к ухудшению массообмена и, как следствие, к ухудшению качества колонок. Данные, приведенные в табл.1, получены следующим образом: выбирали колонки, заполненные определенным сорбентом, имеющие наилучшую удельную эффективность, измеренную на хроматографе "Милихром"; каждую из колонок тестировали три раза, и в таблицу вносили среднее из трех значений эффективности. Средний размер частиц определялся с помощью микроскопа.

В первую очередь любого изготовителя колонок интересует распределение частиц адсорбента по размерам и качество упаковки колонок по уже существующей технологии. Для оценки распределения частиц по размерам была использована следующая методика: адсорбент тонким слоем наносится на предметное стекло и просматривается в микроскоп с сеткой (цена деления 1 мкм), определяется максимальный размер 300 частиц адсорбента, строится распределение частиц по размерам, рассчитывается средний

размер частиц силикагеля и сравнивается с паспортными данными. Часто бывает необходимо привести данные по распределению частиц к виду, предусмотренному фирмой-изготовителем. Например, фирма LACHEMA приводит распределение частиц следующим образом: в адсорбенте содержится 10 % частиц с размером менее 4 мкм, 50 % частиц с размером менее 5,6 мкм и 90 % частиц с размером менее 6,8 мкм. К сожалению, из данных фирмы построить распределение частиц по размерам невозможно. Нами было про-

анализировано распределение частиц более чем для 60 партий адсорбентов Silasorb 600, Silasorb SPH 600, Silasorb C 18, Silasorb SPH C18, изготовленных и поставленных на ПО "Нау прибор" в течение 1983 – 1991 гг. (рис. 1).



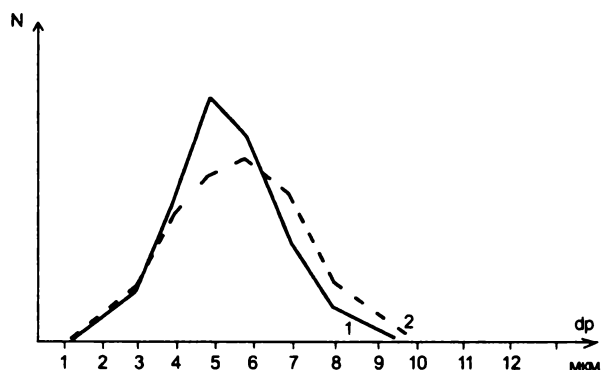
**Рис. 1.** Типичные распределения частиц по размерам: 1 - для адсорбентов Silasorb 600 и Silasorb C 18; 2 - для адсорбентов Silasorb SPH и Silasorb SPH C18

При сравнении паспортных характеристик с полученными данными выяснилось, что для всех проверенных партий (а их более 60) размеры частиц уменьшены в среднем на 0,6 мкм, т.е. если в паспорте указано: 10 % 4,5 мкм, 50 % 5,4 мкм, 90 % 6,8 мкм - то по данным микроскопического анализа получено: 10 % 5,1 мкм, 50 % - 6,1 мкм, 90 % 7,4 мкм. Оценка размеров частиц по гидродинамическому сопротивлению хроматографических колонок (метод предложен А.А.Карапетяном и Г.Г.Васияровым) подтвердила данные микроскопического анализа. Паспортные данные адсорбентов, произведенных фирмой LACHEMA после 1992 г совпадают с результатами микроскопического анализа. Полученные данные по распределению частиц чешских адсорбентов до сих пор представляют определенный интерес, так как и сейчас достаточное количество хроматографических колонок заполняются в России и СНГ этими адсорбентами.

Распределение частиц адсорбента Lichrosorb Sil (1986 г. производства Merck, Германия) удивительным образом совпадает с данными по распределению адсорбентов "Silasorb". Это дает основание предполагать, что под названием фирмы Merck в 80-е годы поставлялись все те же адсорбенты "Silasorb".

На рис.2 представлены распределения частиц по размерам для адсорбентов Nucleosil C18, (1992 г. выпуска) и Диасорб С 16Т (марка 5 мкм). Несмотря на достаточно хорошее распределение, в указанных адсорбентах все же много мелких ча-

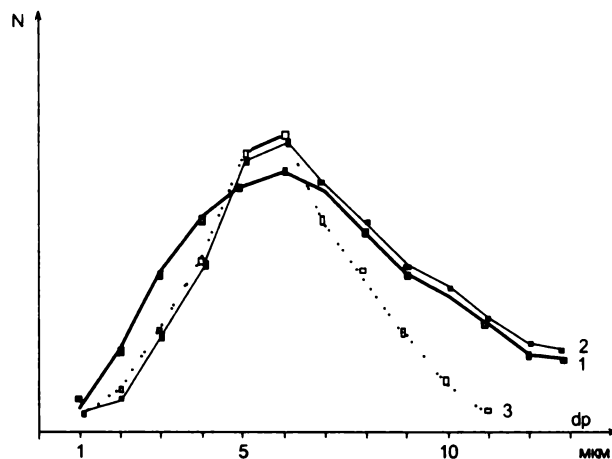
стиц, которые значительно ухудшают качество изготавливаемых колонок.



**Рис. 2.** Распределение частиц адсорбента по размерам: 1 - Nucleosil C18; 2 - Диасорб С16 Т, марка 5 мкм

Перед приготовлением суспензии адсорбент необходимо очистить от мелких частиц с диаметром меньше 3 мкм ("отмучивание" адсорбента). Для проведения отмучивания адсорбент в количестве около 1,5 г помещают в мерный цилиндр на 250 мл и заливают 120-130 мл ацетона. Содержимое цилиндра встряхивают в течение 5-6 минут, затем полученную суспензию оставляют на 1,5 - 2 ч. Через 1,5 - 2 часа раствор отделяют от осадка декантацией, прибавляют к осадку 120-130 мл ацетона, встряхивают и опять оставляют на 1,5 - 2 ч. Такую операцию проводят 2 - 4 раза.

При седиментации суспензии готового адсорбента над слоем суспензии должен образоваться слой чистого растворителя. Качество отмучивания необходимо контролировать под микроскопом. После отмучивания распределение частиц заметно улучшается (рис.3), что положительно сказывается не только на эффективности хроматографических колонок, но и на продолжительности работы колонки (уменьшается вероятность засорения нижнего фильтра колонки мелкими частицами).



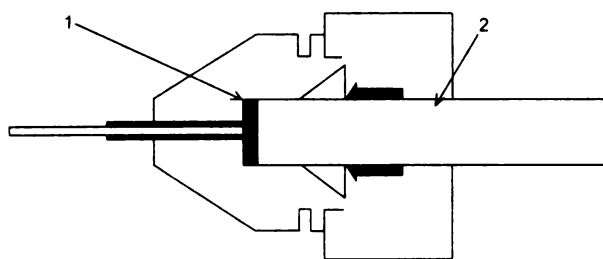
**Рис. 3.** Распределение частиц по размерам адсорбента Силасорб-600: 1- исходный; 2 - после отмучивания; 3 - после седиментации крупных частиц

При подготовке суспензии может случиться так, что уже при отмучивании адсорбента видно: часть адсорбента очень быстро оседает из суспензии в виде небольших комочков, которые не разрушаются при встряхивании суспензии. Это обусловлено агрегацией частиц адсорбента при хранении, что, как правило, связано с нарушением технологии изготовления и промывки адсорбента на предприятии-изготовителе. При наличии таких агрегатов возможны несколько вариантов подготовки адсорбента:

- 1) если возможно – заменить адсорбент;
- 2) провести фракционирование адсорбента седиментацией: приготовленную суспензию оставить на 10-15 мин; суспензию оставить, а осадок отбросить – таким способом можно не только избавиться от агрегатов, но и несколько улучшить распределение частиц адсорбента по размерам;
- 3) обработать суспензию ультразвуком в течение 20 - 30 с; если за это время агрегаты не разрушились, то дальнейшая обработка ультразвуком не только бесполезна, но и вредна. Агрегация частиц характерна для так называемых “нерегулярных” частиц адсорбента, значительно реже такой эффект наблюдается для частиц, имеющих сферическую, “регулярную” форму.

#### Подготовка деталей колонки

Очень важно тщательно подготовить к набивке хроматографическую колонку. На рис. 4 представлен фрагмент хроматографической колонки хроматографа “Милихром” с выходным штуцером.



**Рис. 4.** Фрагмент хроматографической колонки:  
1 - фильтр; 2 - трубка

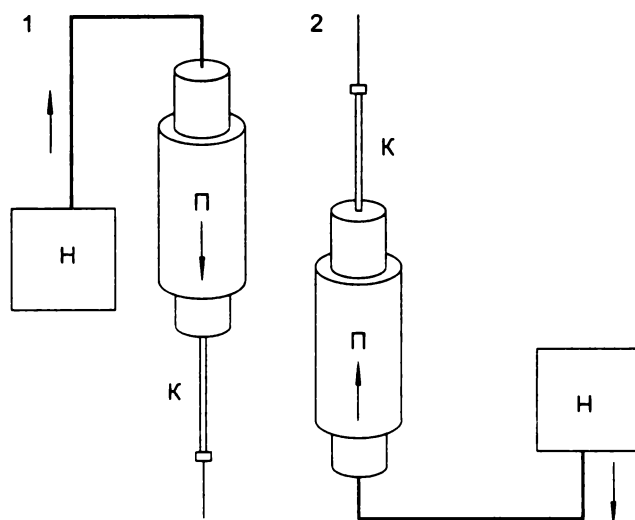
Подготовка трубки хроматографической колонки заключается в следующем:

- 1) полностью собирают хроматографическую колонку и на трубке опрессовывают элементы уплотнения;
  - 2) хроматографическую колонку разбирают и трубку, с опрессованными на ней элементами уплотнения и гайками, направляют на полировку.
- Внутренняя поверхность трубки должна быть блестящей и не содержать концентрических вы-

ступов и любого вида царапин. Трубка после полировки тщательно отмывается и вытирается досуха как снаружи, так и внутри. При сборке колонки особое внимание необходимо обратить на посадку трубки 2 на фильтр 1. При правильной сборке трубка должна оставлять на фильтре концентрический след. После сборки и опрессовки колонка разбирается, трубка с опрессованными частями и гайками полируется, отмывается и вновь собирается для заполнения адсорбентом.

#### Заполнение колонок сорбентом

Хроматографические колонки с внутренним диаметром 2 мм ( в том числе все колонки к хроматографам серии “Милихром”) набивают по методу «снизу вверх» [3] (рис.5):



**Рис.5.** Схема установки для набивки колонок:  
1 - «сверху вниз»; 2 - «снизу вверх». Н - насос высокого давления; П - емкость для заливки суспензии (пакер); К - хроматографическая колонка

1) в пакер П заливают суспензию адсорбента в растворителе (пакер представляет собой полую стальную трубу с двумя штуцерами: верхний - для присоединения колонки, нижний - для присоединения насоса);

2) на верхний штуцер пакера навинчивают заранее приготовленную хроматографическую колонку;

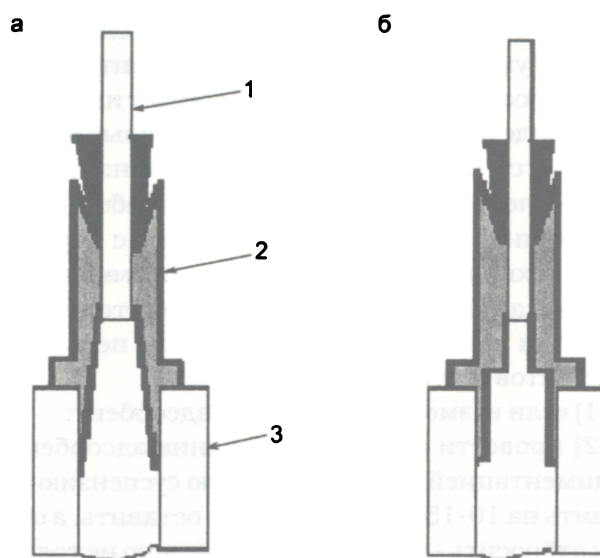
3) включают насос, который подает в пакер жидкость, вытесняющую суспензию адсорбента в колонку.

Средний диаметр частиц адсорбента, используемого для набивки колонок, находится в диапазоне от 4,3 до 5,7 мкм. Для приготовления суспензии используется ацетон марки “чда” или “осч” или метанол такой же квалификации. Важное значение имеет концентрация суспензии.

При больших концентрациях колонка набивается неэффективно, поэтому используют суспензию с концентрацией от 0,005 г/мл до 0,02 г/мл. Исходя из концентрации суспензии и количества адсорбента, необходимого для заполнения колонки (250 мг адсорбента на колонку 62х2), не трудно рассчитать объем пакера - как правило, этот объем составляет величину от 15 до 30 мл. Большое значение для воспроизводимой набивки колонки имеет форма внутренней поверхности выходного штуцера пакера: эта поверхность должна плавно переходить во внутреннюю поверхность трубки колонки, без выступов и заусенцев (рис.6).

При использовании сочленения (б) выход эффективных колонок снижается до 15 % со среднего значения 80 %.

Состав жидкости, используемой для заправки суспензии из пакера в колонку, не всегда совпадает с составом растворителя для приготовления суспензии (табл.2).



**Рис.6.** 1 - трубка колонки; 2 - выходной штуцер пакера; 3- корпус пакера.  
а - правильно; б - неправильно

**Таблица 2**

Составы жидкостей для различных адсорбентов

Адсорбент	Растворитель для суспензии	Растворитель для заправки суспензии
Силасорб 600 (силикагель)	Ацетон	Ацетон
Силасорб SPH (сферический силикагель)	Ацетон	Ацетон-этанол (97:3)
Силасорб C18	Ацетон	Ацетон
Силасорб SPH C18	Ацетон	Ацетон-этанол (97:5)
Сепарон C18*	Ацетон	Ацетон-этанол (97:5)
Нуклеосил C18	Метанол	Метанол
	Ацетон	Метанол
Диасорб C16-T	Ацетон	Ацетон

\* Сепарон C18 перед приготовлением суспензии должен быть тщательно отмыт от оставшихся силанов хлороформом.

Перед набивкой необходимо закачать растворитель для набивки в насос и пакер для вытеснения воздуха из жидкостных линий. Далее: растворитель для набивки выливают из пакера, в пакер заливают готовую суспензию, на пакер наворачивают верхний штуцер с привинченной к штуцеру колонкой и включают насос. Все эти операции необходимо проделать быстро, без остановок, для того, чтобы суспензия не успела осесть на дно пакера. Для хорошей набивки через колонку необходимо прокачать объем растворителя, вчетверо превышающий объем пакера. После остановки насоса необходимо дождаться момента, когда давление в жидкостной системе «насос-пакер» сравняется с атмосферным, и лишь затем снять набитую колонку с пакера так, чтобы не повредить верхний слой адсорбента в колонке. Полезно быстро выровнять верхний слой сорбен-

та механическим способом и после этого наверх на колонку верхний штуцер. При способе набивки «снизу вверх» важнейшее значение имеет не устанавливаемое давление, а расход растворителя при заправке суспензии из пакера в колонку. Для колонок 64 х 2, 80 х 2, 100 х 2 оптимальный расход находится в пределах от 4 до 8 мл/мин. Для разных по длине колонок и разных адсорбентов давление на входе в колонку при таких расходах в конце процесса набивки может достигнуть величины от 30 до 50 МПа, т.е. насос должен обеспечивать указанные выше расходы при давлении 30-50 МПа. Для получения достаточно качественных колонок с удельной эффективностью порядка 40000-50000 т.т./м можно использовать расходы порядка 2,5 - 4 мл/мин. При таких расходах давление в нагнетательной системе не превышает 25 МПа. Таким образом, для получения сравнительно эффектив-

ных колонок можно использовать насосы с максимальным давлением 25 - 30 МПа. При заполнении колонок можно использовать и метод «сверху вниз». Были поставлены эксперименты по приготовлению суспензии в четыреххлористом углероде и прокачке суспензии гексаном. Полученные колонки имели вполне удовлетворительную эффективность. Однако этот метод имеет весьма существенный недостаток: фракционирование адсорбента из устойчивых суспензий невозможно. Фракционирование приходится производить или в воде, или в ацетоне, затем адсорбент необходимо высушить и только после этого можно сделать устойчивую суспензию. Производственный цикл существенно увеличивается и усложняется. Для колонок длиной 100 и 120 мм и внутренним диаметром 2 мм в конце процесса набивки полезно проводить так называемую «доупаковку» или «консолидацию». Смысл заключается в уплотнении верхнего слоя адсорбента колонки. Достигается это либо увеличением расхода растворителя в конце процесса набивки, либо сменой растворителя на растворитель, имеющий большую вязкость или электропроводность, т.е. используется два подхода: механическое (гидравлическое) уплотнение и нейтрализация электростатического заряда частичек обращенно-фазового адсорбента.

#### **Определение эффективности хроматографических колонок**

Эффективность хроматографических колонок экспериментально определяется по известной формуле [4]:

$$N = 5.545 \cdot (t_R/w)^2.$$

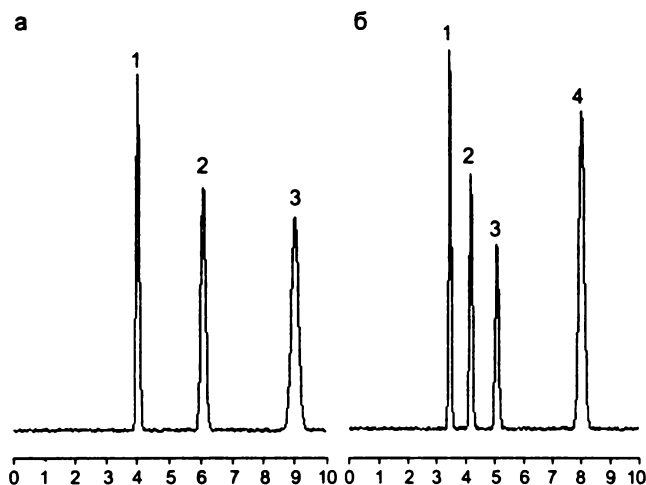
где **N** - эффективность хроматографической колонки в теоретических тарелках (т.т.);  $t_R$  - время удерживания хроматографического пика, по которому определяется эффективность; **w** - ширина пика на полувысоте.

Экспериментально эффективность хроматографических колонок должна определяться в оптимальных условиях: расход элюента для колонок длиной 60 - 120 мм и внутренним диаметром 2 мм лежит в диапазоне от 70 до 150 мкл/мин. Обычный расход элюента при использовании хроматографов серии «Милихром» - 100-150 мкл/мин. Коэффициент емкости хроматографического пика должен быть в диапазоне 7-9; должно отсутствовать уширение хроматографических пиков, обусловленное межмолекулярными взаимодействиями; внеколоночное уширение должно

быть сведено к минимуму; элюент должен быть составлен таким образом, чтобы не происходило адсорбционное модифицирование адсорбента. Максимальная эффективность достигается при температуре окружающей среды 18 - 22 С°, при минимальном объеме и количестве вещества в пробе. Несоблюдение этих правил может привести к уменьшению эффективности хроматографической колонки в 2-3 раза (!). Реальная эффективность хроматографической колонки сильно зависит от размывания пробы во внеколоночных элементах конструкции хроматографа: в узле ввода пробы (инжектор), в соединении между инжектором и хроматографической колонкой, в соединении между колонкой и кюветой детектора, в самой кювете детектора. Например, автоматизация узла ввода пробы в хроматографах «Милихром-2» и «Милихром-4» привела к потере в среднем около 15 % эффективности колонки по сравнению с обычным «Милихромом». Конечно, изменить конструкцию прибора в большинстве случаев не удастся, но уменьшить длину капилляров, соединяющих узел ввода пробы и колонку, а также колонку и детектор, - просто необходимо. Тем не менее эффективность колонки лучше измерять на хроматографах серии «Милихром». В реальном анализе эффективность колонки может быть значительно ниже указанной в паспорте. Так происходит тогда, когда не удается устранить уширение хроматографического пика, обусловленное межмолекулярными взаимодействиями (обычный случай для обращенно-фазового варианта).

Таким образом, при тестировании хроматографических колонок, заполненных силикагелем, может быть использована смесь о-, м- и п-нитроанилинов в качестве адсорбатов и элюент гексан-хлороформ-изопропанол в соотношении 70:22:8 или 70:20:6 по объему. Расчет эффективности производится по хроматографическому пику п-нитроанилина. Тестирование колонок, заполненных обращенно-фазными адсорбентами (химически алкилмодифицированные силикагели типа С8, С16 и С18), лучше производить смесью бензол-нафталин-антрацен или нафталин-антрацен-м-терфенил при использовании элюента ацетонитрил-вода в соотношении от 60:40 до 75:25 по объему в зависимости от содержания углерода в адсорбенте. Для сорбентов, содержащих 12-14 % углерода, предпочтительнее элюенты ацетонитрил-вода в соотношении 55:45. При содержании углерода 16-18 % и выше используются элюенты с содержанием ацетонитрила, более 70 % по объему. Расчет эффективности ведет-

ся по антрацену или м-терфенилу. При подготовке колонки к анализу бенз(а)пирена расчет эффективности целесообразнее проводить по бенз(а)пирену. (рис. 7). В этом случае в качестве элюента используют ацетонитрил-воду в соотношении 75:25 или 80:20.



**Рис. 7.** Определение эффективности колонок 80х2: а - заполнена силикагелем Силасорб-600, 5 мкм. Элюент гексан-хлороформ-изопропанол 76:18:6, спектрофотометрический детектор, длина волны 290 нм, расход 150 мкл/мин; 1 - о-нитроанилин; 2 - м-нитроанилин; 3 - п-нитроанилин; N = 6100 т.т.; б - заполнена Диасорб С16, 5,2 мкм. Элюент ацетонитрил-вода 80:20, длина волны 254 нм, расход элюента 100 мкл/мин. 1 - нафталин; 2 - антрацен; 3 - м-терфенил; 4 - бенз(а)пирен; N = 7200

### Зависимость удельной и общей эффективности хроматографических колонок от длины колонок

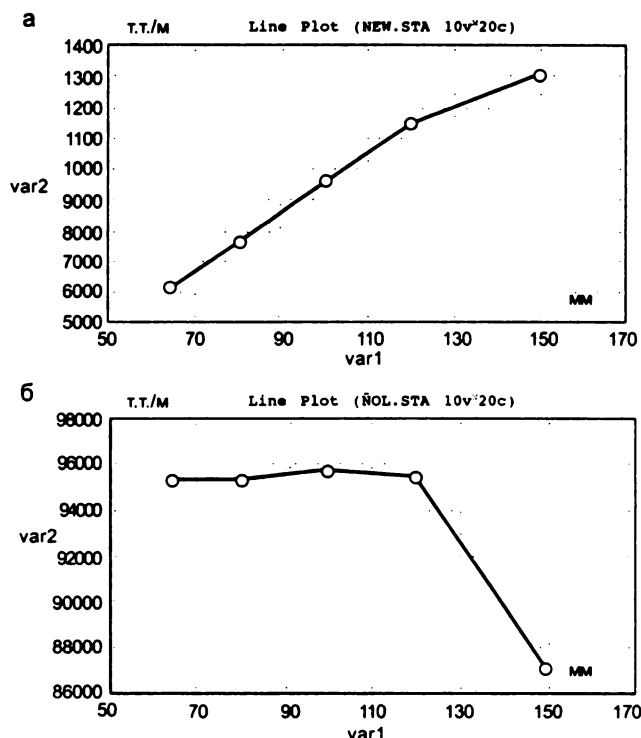
При исследовании зависимости удельной (на метр длины колонки) и общей эффективности хроматографических колонок от длины колонок были использованы колонки 64х2, 80х2, 100х2, 120х2 и 150х2 заполненные Силасорб-600 (5.2 мкм).

Результаты исследования показаны на рис. 8, а и 8. б. Из рисунка хорошо видно, что при превышении длины колонки 120 мм наблюдается уменьшение удельной эффективности и небольшое увеличение общей эффективности. Таким образом, максимальная длина хроматографических колонок с внутренним диаметром 2 мм, заполняемых с наилучшим качеством в указанных условиях, составляет 120 мм.

### Испытание колонок на надежность.

#### Консервация колонок

Отказом колонки считается резкое уменьшение селективности и эффективности колонки при разделении тестовой смеси.



**Рис. 8.** График зависимости общей эффективности (а) и удельной эффективности (б) хроматографических колонок от длины колонок

При реальных испытаниях силикагельных колонок резкая потеря селективности и эффективности наступала при 1100 - 1200 анализах тестовой смеси, причем процесс ухудшения происходил не плавно, а скачкообразно, т.е. в течение 2-3 анализов наступала почти полная потеря разрешения. При испытаниях колонок, заполненных обращенно-фазовым адсорбентом, подобного эффекта не наблюдалось. При проведении 800 - 900 анализов тестовой смеси наблюдалось плавное уменьшение эффективности с одновременным повышением гидродинамического сопротивления колонок. После замены входного фильтра сопротивление уменьшалось, но восстановить исходную эффективность уже не удавалось. Ни разу не была зафиксирована полная потеря разрешения, хотя испытания на надежность проводились четыре раза в течение восьми лет.

Наилучшие результаты по консервации силикагельных колонок дало их хранение в гексане. В этом случае в течение года не происходило существенных изменений ни эффективности, ни селективности разделения тестовой смеси. Хранить колонки с обращенно-фазовым адсорбентом предпочтительней в дегазированном ацетонитриле: в течение года при таком хранении не происходит изменения свойств колонки. Дегазирование необходимо для предотвращения коррозии фильтров и внутренней поверхности колонки.

Определенный интерес представляют данные по характеристикам колонок, изготовленных для комплектации приборов в 1989 - 91 гг. и востребованных для запуска только в 1998 г. Колонки, заполненные Силасорбом-600 или Силасорбом С18, пролежали в комплекте ЗИПа 7-8 лет. Оказалось, что ни одна из колонок не потеряла селективности, однако у всех колонок резко увеличилось гидродинамическое сопротивление и на 25-30 % уменьшилась эффектив-

ность. При вскрытии колонок выяснилось, что почти полностью проржавели входной и выходной фильтры; верхний и нижний слои адсорбента забиты продуктами окисления фильтров.

При проведении хроматографического эксперимента использовались хроматографические колонки 64x2, 80x2, 100x2, 120x2 и 200x4, заполненные суспензионным способом на установке ГЗК-01 [5].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Сычев С.Н. Методы совершенствования хроматографических систем и механизмы удерживания в ВЭЖХ. Орел: ОрелГТУ, 2000. 212 с.
2. Сычев С.Н. Вискоэффективная жидкостная хроматография на микроколоночных жидкостных хроматографах серии «Милихром» / С.Н.Сычев, К.С.Сычев, В.А.Гаврилина. Орел: ОрелГТУ, 2002. 135 с.
3. Стыскин Е.Л. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография / Е.Л.Стыскин, Л.Б.Ициксон, Е.В.Брауда. М.: Химия, 1986. 288 с.
4. Martin A.J.P. A new form of chromatography employing two liquid phases. 1. A theory of chromatography. 2. Application to the microdetermination of the higher monoamino acids in proteins / A.J.P.Martin, R.L.M.Synge // Biochem. J. 1941. V.35. P.1358-1368.
5. Любезников О.А. Установка для заполнения аналитических высокоэффективных хроматографических колонок ГЗК-01 / О.А.Любезников, И.Г.Костылев и др. // Тез. 3-го Всесоюзного симпозиума "Молекулярная жидкостная хроматография". Рига, 1984. С.197.

\* \* \* \* \*

#### MANUFACTURING TECHNIQUES EFFECTIVE CHROMATOGRAPHIC COLUMNS With INTERNAL DIAMETER 2 MM FOR HPLC

S.N.Sychev, V.A.Gavrilina, S.A.Jurova, I.K.Sattsaeve, A.N.Butirin

*The basic technological receptions and modes of manufacturing highly effective chromatographic columns with internal diameter 2 mm for HPLC are considered. Results of manufacturing, testing and operation more than 1500 chromatographic columns to chromatographs series "Milichrom" are generalized.*